

THESIS

TÜBINGEN

1967

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen

Direktor: Professor Dr. K. Betke

Das ultrafiltrable Calcium im Serum Neugeborener
in Abhängigkeit von der H-Ionenkonzentration
Methoden zur Differenzierung der Calciumfraktionen
in kleinen Serummengen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Waltraud Harms
aus Leer/Ostfriesland

1967

8993

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153517_0252

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen

Direktor: Professor Dr. K. Betke

Das ultrafiltrable Calcium im Serum Neugeborener
in Abhängigkeit von der H-Ionenkonzentration
Methoden zur Differenzierung der Calciumfraktionen
in kleinen Serummengen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Waltraud Harms
aus Leer/Ostfriesland

1967

Die Arbeit wurde ermöglicht durch ein Promotionsstipendium
der Stiftung Volkswagenwerk

Dekan: Professor Dr. W. Schneider

1. Berichterstatter: Dozent Dr. K. Riegel
(Professor Dr. K. Betke)

2. Berichterstatter: Dozent Dr. M. Eggstein

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung und Fragestellung	1
II. Die Serumcalciumfraktionen und Faktoren, die sie beeinflussen	4
III. Methoden zur Differenzierung der Serumcalciumfraktionen	6
1. Ultrafiltration	
a) Anforderungen an die Trennverfahren	
b) Literaturübersicht	
2. Nachweis der Calciumionen	
IV. Eigene Methoden	9
1. Calciumbestimmung mit Glyoxal-bis-(2-hydroxyanil)	
2. Ultrafiltration	
3. Calciumionennachweis mittels Murexid	
4. pH-Messung	
5. Eiweißbestimmung	
Berechnungen und Statistik	
V. Versuchsgang	13
1. Serumgewinnung	
2. Äquilibrierungsverfahren	
VI. Ergebnisse	15
1. Erwachsenenblut	
2. Nabelschnurblut	
3. Blut 4 - 9 Tage alter Neugeborener	
4. Austauschblut	
VII. Diskussion der Ergebnisse	18
VIII. Zusammenfassung	22
IX. Literaturverzeichnis	24
X. Abbildungen und Tabellen	33
Lebenslauf	

I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Im Jahre 1913 berichtete KEHRER im Rahmen eines "orientierenden Überblicks über die Tetanie, soweit sie für den Gynäkologen von Interesse ist", zum ersten Male über Fälle von Tetanie bei Neugeborenen. Er schrieb einleitend (S. 374): "Kein Zeitpunkt scheint mir dafür günstiger als der gegenwärtige, da die experimentelle Pathologie im Begriffe steht, die letzten Ursachen der Tetanie aufzuklären, nachdem sie einwandfreie Beweise für die Insuffizienz der sogenannten Beischilddrüsen oder Epithelkörperchen als wesentlichsten ätiologischen Faktor bereits erbracht hat."

Mehr als fünfzig Jahre später ist zwar vieles aus der Ätiologie der Tetanie bekannt, aber die "letzten Ursachen" sind noch immer nicht geklärt, vor allem hinsichtlich der Neugeborenentanien. In den auf KEHRERs Bericht folgenden Jahren fanden sich nur wenige diesbezügliche Mitteilungen, u. a. berichtete GRIFFITH 1926 über je eine hypo- und normocalcämische Tetanie bei Neugeborenen und eine hypocalcämische Tetanie bei einem 5 Wochen alten Säugling. 1937 berichtete BAKWIN über eine Reihe von hypocalcämischen Tetanien bei Neugeborenen, als deren Ursache er eine ins Pathologische gesteigerte postnatale Reduktion des Serumcalciums ansah, die er in geringem Ausmaße auch bei gesunden Neugeborenen gefunden hatte.

TODD et al legten 1939 Ergebnisse aus der Literatur und aus eigenen Messungen vor über das Verhalten von Calcium und Phosphor bei gesunden Neugeborenen. Auch sie und anschließend WILLI 1939 stellten die postnatale Reduktion des Calciumspiegels fest, die bei tetanischen Neugeborenen besonders ausgeprägt war und mit einer passageren Unterfunktion der Parathyreoidea in Verbindung gebracht wurde (WILLI 1939), die auch ohne grobanatomische Veränderungen möglich und geburtstraumatisch bedingt sein sollte.

In den 1949 von DODD u. RAPOPORT veröffentlichten Befunden wiesen alle tetanischen Neugeborenen erniedrigte Serumcalciumspiegel (3 - 4, 5 mval/l) auf, aber auch bei gesunden wurden vereinzelt Werte unter 4, 5 mval/l gefunden. Zudem wurde von nahezu allen Autoren die Möglichkeit oder sogar das Bestehen von normocalcämischen Tetanien mit vermuteter Verminderung des "aktiven Calciums" angegeben.

In welchem Ausmaße die Serumcalciumkonzentration mitbestimmend ist für den klinischen Zustand des Neugeborenen, ist also ungewiß. Nach neueren

Literaturangaben müßte häufig mit einer Tetanie gerechnet werden, da Serumcalciumkonzentrationen unter 4 mval/l bei 1,2 % aller reifen Neugeborenen auftreten (GITTLEMAN et al. 1956). Klinisch manifeste Tetanien werden dagegen nur mit einer Häufigkeit von 1 - 1,5 ‰ gefunden (SAVILLE u. KRETSCHMER 1960). Bei Frühgeborenen sind allgemein sehr niedrige Calciumwerte zu erwarten (BRUCK u. WEINTRAUB 1955), GITTLEMAN et al 1956 fanden bei der Hälfte aller untersuchten Frühgeborenen Werte unter 4 mval/l, ROSENKRANZ 1966 fand im Mittel 3,75 mval/l. Beim ausgetragenen Neugeborenen beträgt die in den ersten Lebenstagen erfolgende Abnahme im Mittel 0,75 mval Ca/l, so daß man von einer "physiologischen Hypocalcämie" gesprochen hat (BRUCK u. WEINTRAUB 1955, SWOBODA 1962). Besonders disponiert für eine Neugeborenentetanie sind Kinder diabetischer Mütter (GITTLEMAN et al 1956) und Neugeborene in der Erholungsphase des idiopathischen Atemnotsyndroms.

Es gibt zahlreiche Ursachen, die zu einer verminderten Serumcalciumkonzentration führen können (BRUCK u. WEINTRAUB 1955). Bei Frühgeborenen dürfte ein absoluter Mineralmangel im Vordergrund stehen, da der Calciumbestand des Foeten in den letzten Schwangerschaftswochen besonders stark zunimmt: von 8,5 g am Ende der 32. Woche auf 23 g am Ende der 40. Woche (zit. n. SMITH 1959 p. 293). Darüberhinaus wirken sich der Geburtsstress, die Ernährung - Kuhmilch bedingt eher eine Hypocalcämie als Frauenmilch (BRUCK u. WEINTRAUB 1955, SAVILLE u. KRETSCHMER 1960) - die Vitamin-D-Versorgung der Mutter sowie hormonelle Dysregulationen der Nebenschilddrüsen und der Nebennieren, ferner adaptive Änderungen der Nierenfunktion auf den Calcium/Phosphat-Stoffwechsel aus (BAKWIN 1937, GRIBETZ 1957, SCHNEEGANS 1964, GYÖRGY et al 1964).

Für das Entstehen einer Tetanie ist der Anteil des ionisierten Calciums am Gesamtcalcium von erstrangiger Bedeutung (SHELLING u. MASLOW 1928, HARNAPP 1938, SARTORI 1955, FANCONI u. ROSE 1958). Der Serumspiegel des ionisierten Calciums wird außer durch hormonelle Regulation vor allem mit dem pH-Wert des Serums verändert (FANCONI u. ROSE 1958).

1920 legten GRAND u. GOLDMAN erstmals Befunde über die experimentelle Auslösung der Tetanie durch Hyperventilation bei Erwachsenen vor. Über die Bedeutung der Hyperventilation bei tetanischen Neugeborenen berichtete SHANNON 1935 an Hand klinischer Befunde. Bei Kindern diabetischer Mütter und bei Kindern nach überstandem Atemnotsyndrom, die tetanische Zeichen aufwiesen, konnte in einer kleinen Versuchsserie konstant eine Alkalose nachgewiesen werden (RIEGEL u. NELSON 1965). Über das Verhalten der Serumcalciumfraktionen im Nabelschnurblut und bei Neugeborenen liegen außer nach McLEAN u.

HASTINGS 1935 berechneten Werten nur wenige Mitteilungen über gemessene Werte vor. ANDERSCH u. OBERST 1936 fanden im Nabelschnurvenenblut gesunder Neugeborener 5,45 - 6,3 mval Ca/l Serum und 1,6 - 3,45, im Mittel 2,65 mval Ca/l Ultrafiltrat. CRAIG 1958 fand bei tetanischen Neugeborenen diabetischer Mütter ein niedriges Gesamt- und ultrafiltrables Calcium: 3,35 - 4,15 bzw. 1,35 - 2,45 mval/l Serum oder Ultrafiltrat, wobei die beiden höchsten Werte mit nur geringen tetanischen Erscheinungen verbunden waren. In einer weiteren Untersuchung von CRAIG u. BUCHANAN 1958 wurden neben den schon genannten Werten weitere ähnliche Ergebnisse mitgeteilt.

Eine umfassende Studie, die alle Variablen berücksichtigte und methodisch einwandfrei durchgeführt wurde, liegt bis jetzt noch nicht vor. Diese Arbeit sollte die methodischen Grundlagen zu einem solchen Vorhaben liefern. Gefordert wurden Methoden, die mit kleinstmöglichen, Neugeborenen zumutbaren Substratmengen durchführbar sind: eine Ultramikrocalciumbestimmung mit zuverlässiger Genauigkeit, ein Verfahren zur anaeroben Abtrennung der ultrafiltrablen Serumanteile unter Wahrung der physiologischen Gleichgewichte sowie eine Erfassung der Calciumionen, da sie bei normalem Gesamt- und ultrafiltrablem Calcium vermindert sein können.

II. DIE SERUMCALCIUMFRAKTIONEN UND FAKTOREN, DIE SIE BEEINFLUSSEN

Nach FOURMAN 1963 ist das Calcium des erwachsenen menschlichen Organismus zu mehr als 99 % in Form des Apatits im Knochen fixiert. Etwa 1 g Calcium zirkuliert in der Extrazellulärflüssigkeit und steht in ständiger Wechselwirkung mit dem Knochencalcium, aus dem ein Defizit ausgeglichen werden kann. Beim Neugeborenen liegt auf Grund der noch unvollständigen Verknöcherung des Skeletts ein prozentual höherer Anteil des Gesamtkörpercalciums in der Extrazellulärflüssigkeit vor, so daß die Reserve zum Ausgleich von Mangelzuständen geringer ist. Die Regulation unterliegt dem geordneten Zusammenspiel zwischen Calciumresorption und Ausscheidung, Fixierung im und Mobilisierung aus dem Knochen, das im wesentlichen vom Vitamin D und dem Parathormon gesteuert wird.

Das Serumcalcium liegt in drei Fraktionen vor:

1. nicht ultrafiltrabel = proteingebunden (vorwiegend an Albumine, in geringen Mengen auch an β - + γ -Globuline, PRASAD u. FLINK 1958),
2. ultrafiltrabel ionisiert = Ca^{++} ,
3. ultrafiltrabel nicht ionisiert, d.h. vorwiegend als Citrat und Lactat, in geringen Mengen auch an andere organische Säuren des Citronensäurecyclus komplex gebunden.

Die Fraktionen 2 und 3 werden gemeinsam als ultrafiltrables Calcium (uf. Ca) bezeichnet.

Das ionisierte Calcium ist die biologisch aktive Form des Serumcalciums. Es vermindert die Durchlässigkeit von Membranen, beeinflusst die Stabilität der interzellulären Matrix, vermindert die neuromuskuläre Erregbarkeit und fördert die Freisetzung mechanischer Energie (BOHR 1964). Im Hinblick auf die Membranfunktion wirkt Kalium als Antagonist (HÖBER 1945), so daß bei Kaliummangel das ionisierte Calcium vermindert sein kann, ohne daß klinische Symptome auftreten (FOURMAN 1954).

Der Serumspiegel des ionisierten Calciums wird in erster Linie reguliert vom

Parathormon, das an der Niere und am Knochen angreift. Über den Angriffsmechanismus am Knochen bestehen im wesentlichen zwei Theorien, von denen eine davon ausgeht, daß das Parathormon an den Knochenkristallen über eine Vermehrung der Citratbildung mit Herauslösung von Calcium und dessen Bindung als Citrat wirksam wird (NEUMAN u. NEUMAN 1958). Die zweite Theorie besagt, daß das Hormon primär an der Knochengrundsubstanz angreift (BAKER et al 1953). Als Vermittler der Hormonwirkung gelten in beiden Fällen die Knochenzellen.

Neben der Calciummobilisierung durch Parathormon wird auch durch Ansäuerung des Organismus aus dem Knochen Calcium freigesetzt (SALMI 1954), das Gesamtcalcium also erhöht. Außerdem beeinflußt der Serum-pH-Wert den Ionisationsgrad des Calciums; eine Alkalose verursacht eine stärkere Eiweiß- und Komplexbindung, eine Acidose eine vermehrte Ionisation, wie es von vielen Untersuchern auf Grund der Bestimmung des uf. Ca vermutet (u.a. DILLMANN u. VISSCHER 1933, BAKWIN 1937, HOPKINS et al 1952, BROWN 1953, PRASAD et al 1957, TORIBARA et al 1957, LOKEN et al 1960, BREEN u. FREEMANN 1961, HATTINGBERG et al 1966), aber nur von wenigen (FANCONI u. ROSE 1958, MOORE 1966) direkt nachgewiesen wurde. Eine Abnahme des ionisierten Calciums führt zum klinischen Bild der Tetanie, die hypocalcämisch oder normocalcämisch sein kann. Im letzteren Falle ist zur Diagnose dann die Bestimmung der einzelnen Fraktionen notwendig, vor allem die Ermittlung des Serumspiegels der biologisch aktiven Form.

III. METHODEN ZUR DIFFERENZIERUNG DER SERUMCALCIUMFRAKTIONEN

1. ULTRAFILTRATION

a) Anforderungen an die Trennverfahren

Bei der Ultrafiltration sind, um die physiologischen Verhältnisse möglichst genau zu erfassen, folgende Punkte zu beachten:

- 1.) Temperaturkonstanz von etwa 37° C, da das ultrafiltrable Calcium mit fallender Temperatur zunimmt (TORIBARA et al 1957, LOKEN et al 1960, PIKKARAINEN et al 1962, MUNDAY u. MAHI 1964).
- 2.) pH-Konstanz, d.h., möglichst anaerobe Filtration, um CO₂-Verluste zu vermeiden, da ein pH-Anstieg eine Abnahme des ultrafiltrablen Calciums verursacht (HOPKINS et al 1952, PRASAD u. FLINK 1957, TORIBARA et al 1957, FANCONI u. ROSE 1958, LOKEN et al 1960, BREEN u. FREEMANN 1961, MUNDAY u. MAHI 1964, HATTINGBERG et al 1966).
- 3.) kurze Filtrationszeiten und kleines Filtratvolumen, um Gleichgewichtsverschiebungen zu vermeiden (AMBARD u. TRAUTMANN 1960, S. 12).
- 4.) das Donnan-Membrangleichgewicht geht bei allen Trennverfahren mit ein, durch Filtration unter Druck ist allerdings die Einstellung eines freien Membrangleichgewichts nicht gewährleistet. Eine rechnerische Berücksichtigung nach ROSE 1957 würde eine Erhöhung der Konzentration des ultrafiltrablen Calciums um maximal 5 %, nach AMBARD u. TRAUTMANN 1960 (S. 18) sogar um nur 1 %, bedeuten. Für eine Methode ist der Fehler immer gleich groß, so daß er in der vorliegenden Arbeit unberücksichtigt bleibt.

b) Literaturüberblick

Bei einem Überblick über schon vorhandene Methoden zur Ultrafiltration zeigen sich folgende Möglichkeiten:

- 1.) Dialyseverfahren: Dialyse von Serum gegen Wasser oder Ringerlösung (RONA u. TAKAHASHI 1911, v. MEYSENBUG et al 1921, UPDEGRAFF et al 1926, POULOS 1957). Dabei waren durch Volumen-, Temperatur- und pH-Änderungen Gleichgewichtsverschiebungen nicht zu vermeiden.

2.) Filtration mit Hilfe von Hg- Über- oder Unterdruck (GREENBERG u. GUNTHER 1930, LAVITIES 1937, ROSE 1957, WILLKINSON 1960, PIKKARAINEN et al 1962). Diese Methoden gewährleisteten entweder keine pH-Konstanz (GREENBERG u. GÜNTHER 1930), oder extrem lange Filtrationszeiten und/oder Filtration bei Zimmertemperatur führten zu Gleichgewichtsverschiebungen (LAVITIES 1937, ROSE 1957, WILKINSON 1960). Zum Teil waren die benötigten Serummengen sehr groß (ROSE 1957, PIKKARAINEN et al 1962).

3.) Ultrafiltration beschleunigt durch Zentrifugalkraft. Sowohl TORIBARA et al 1957 als auch PRASAD u. FLINK 1957 gaben für ihre Methode, für die sie 3 bzw. 10 ml Serum benötigten, einen pH-Anstieg von 0,35 - 0,4 Einheiten an. MUNDAY u. MAHI 1964 benötigten für ihre Methode 1 ml Serum, aber 11 Stunden Zentrifugation.

Die Gewinnung von proteinfreien Serumbestandteilen mit der Ultrazentrifuge (BREEN u. FREEMANN 1961, LOKEN et al 1960) erforderte relativ große Serummengen und lange Zentrifugationszeiten.

4.) Über eine weitere Methode zur Erfassung des diffusiblen Serumcalciums berichteten v. HATTINGBERG u. KLAUS 1966. Sie inkubierten Sephadexgel mit Serum und wiesen anschließend im inneren Gelwasser die diffusiblen Serumbestandteile nach.

2. NACHWEIS DER CALCIUMIONEN

Der direkte Nachweis des ionisierten Calciums wurde erstmals 1934 von McLEAN u. HASTINGS mit der Froschherzmethode versucht. Die Methode ist mit einer Fehlerbreite von $\pm 0,2$ mval Ca^{++}/l behaftet, sehr aufwendig, nur bei Temperaturen zwischen 10 - 25°C anwendbar und gestattet keine Erfassung der pH-abhängigen Variationen des ionisierten Calciums.

1938 berichtete HARNAPP über einen Nachweis der Calciumionen mittels des schwerlöslichen Calciumpikrolonats, dessen Anion eine Färbung aufweist. Mit steigender Calciumionenkonzentration in der Testlösung wird die Dissoziation des Salzes zurückgedrängt, damit nimmt die Farbintensität der Lösung ab. Nähere Angaben zur Methode fehlen. Die ermittelten Normalwerte von etwa 40 % ionisiertem, 40 % proteingebundenem und 20 % komplexgebundenem Calcium bestätigte HARNAPP 1966.

Eine weitere Methode zur Erfassung des ionisierten Calciums entwickelte RAAFLAUB 1951. Er bestimmte Calciumionen mit Hilfe eines Calcium-Murexid-Komplexes.

Erste ausführliche Untersuchungen in Ultrafiltraten nahm ROSE 1957 mit dieser Methode vor. Als Normalwerte im Serum bzw. Uf. fand er $2,95 \text{ mval Ca}^{++}/\text{l}$. FANCONI u. ROSE 1958 stellten fest, daß bei pH-Änderungen die Variationen des ionisierten Calciums wesentlich ausgeprägter waren als die des ultrafiltrablen Calciums.

1958 modifizierten ETTORI u. SCOGGAN die Murexid-Methode, 1963 wandte LUMB diese Modifikation im Serum direkt an mit dem gleichen Ergebnis wie ROSE 1957.

1961 untersuchte WALSER Serumultrafiltrate mit der gleichen Methode, er fand Normalwerte von $2,35 \text{ mval Ca}^{++}/\text{l}$ und $0,35 \text{ mval komplexgebundenem Calcium}/\text{l}$. Die Fehlerbreite der Methode betrug $\pm 0,2 \text{ mval Ca}^{++}/\text{l}$. HARNACH et al 1963 fanden im Mittel $3,07 \text{ mval Ca}^{++}/\text{l}$ Serum bzw. Ultrafiltrat. Diese unterschiedlichen Meßergebnisse mit der Murexid-Methode lassen sich durch die Beeinflussung der Reaktion durch Spuren anwesender Metallionen erklären (WALSER 1960).

Während des Experimentierens an vorliegender Arbeit berichtete MOORE 1966 über calcium-spezifische Elektroden. Mit diesen Elektroden ist die Erfassung der Calciumionen abhängig vom aktuellen und in vitro erzeugten CO_2 -Gehalt bei gleichzeitiger Messung der pH-Werte möglich.

Als Normalwerte im Serum fand MOORE $2,26 \text{ mval Ca}^{++}/\text{l}$, $0,72 \text{ mval komplexgebundenes}$ und $2,44 \text{ mval proteingebundenes Calcium}/\text{l}$, also Werte für das ionisierte Calcium, die deutlich unter den mit Murexid bestimmten lagen.

IV. EIGENE METHODEN

1. CALCIUMBESTIMMUNG MIT GLYOXAL-BIS-(2-HYDROXYANIL)

Zur Bestimmung des Gesamtcalciums in kleinsten Serum- und Ultrafiltrationsproben wurde die Komplexbildung von Glyoxal-bis-(2-hydroxyanil) (Merck Darmstadt) mit Calcium (GOLDSTEIN u. STARK-MAYER 1958) benutzt, die in alkalischer, methanolhaltiger Lösung gegenüber dem nichtcalciumhaltigen Leerwert in den verwendeten Konzentrationen einen linearen Extinktionsanstieg mit Maximum bei 520 nm bewirkt (UMLAND u. MECKENSTOCK 1960).

Es wurde nach den methodischen Angaben aus dem "Eppendorf-Mikro-1-System", Calcium im Serum (AV300 MV) gearbeitet. Das calciumhaltige Substrat (0,01 ml) wurde mit Long-Levy-Pipetten pipettiert. Die Inkubationszeiten mußten exakt eingehalten werden, damit die Bestimmungen zu gut reproduzierbaren Werten führten, da die Extinktion bei 546 nm nach 10 Minuten deutlich abnahm (UMLAND u. MECKENSTOCK 1960). Unter diesen Versuchsbedingungen ergab sich für die Eichkurve ein Extinktionskoeffizient, errechnet aus der Calciumkonzentration in mval/l/Ext. 546 nm, von 13,5. Die Differenz zu dem von Eppendorf angegebenen Faktor 13 erklärte sich durch Pipettenfehler, da zur Reagenz- und Wasserzugabe nichtgeeichte 0,5 ml Vollpipetten verwandt wurden. Da aber immer die gleiche Pipette benutzt wurde, wurde der Fehler durch die Bestimmung des eigenen Extinktionskoeffizienten ausgeschaltet.

Jeder Punkt der Eichkurve wurde durch den Mittelwert aus 10 Meßwerten bestimmt. Bei 2,5 mval Ca/l errechnete sich eine Fehlerbreite der Methode von $\pm 0,05$ mval/l, d.h. $\pm 2\%$, bei 5 mval/l von $\pm 0,07$ mval/l, d.h. $\pm 1,5\%$.

Jeder angegebene Calciumwert im Serum oder Ultrafiltrat ist der Mittelwert aus drei Bestimmungen.

2. ULTRAFILTRATION

Die Ultrafiltration wurde mit Zentrifugalkraft beschleunigt, um in möglichst kurzer Zeit ausreichende Filtratmengen zu ergeben. Dazu wurde eine zweitei-

lige Kammer entsprechend der Abb. 1 mit einer Fritte von 1 cm Durchmesser konstruiert. Die filtrierende Oberfläche betrug $78,5 \text{ mm}^2$. Die beiden Einzelteile wurden unter Zwischenschaltung einer eiweißdichten Cellophanmembran (Dialysierschlauch, Kalle Aktiengesellschaft Wiesbaden), die in aqua bidest. $1/2 - 1$ Stunde gewässert und mit Filtrierpapier abgetrocknet wurde, mit Hilfe von zwei Kunststoffringen zusammengeschraubt. Auf den Auslaufstutzen wurde ein PVC-Schlauch aufgesetzt, der verschlossen werden konnte. Die Kammer wurde auf passend ausgebohrten Gummistopfen gelagert und zum Zentrifugieren bei 6000 rpm $1 \frac{1}{2} - 2$ Stunden lang in Metallzentrifugenbecher eingesetzt. Zur Kontrolle, ob die Membran Calcium absorbierte oder ob die verwendeten Materialien Calcium in Lösung gaben, wurde eine wässrige Calciumchlorid-Lösung mit etwa 5 mval Ca/l unter Paraffin in die Kammer eingefüllt und für zwei Stunden bei 6000 rpm zentrifugiert. Die Calciumbestimmung in der Ausgangslösung und im Ultrafiltrat ergab Werte, deren Differenzen im Bereich der Fehlerbreite der Bestimmungsmethode lagen:

mval Ca/l in		
Nr.	Ausgangs- lösung	Ultrafiltr.
1	5,13	5,17
2	5,00	5,01
3	4,99	4,88
4	5,08	5,10
5	5,09	5,10
$\bar{x}$	5,058	5,052

3. CALCIUMIONENNACHWEIS MITTELS MUREXID

Das ionisierte Calcium sollte mit einer Variation der Murexid-Methode nach LUMB 1963 bestimmt werden. Zur Herstellung von Eichkurven wurden folgende Lösungen angesetzt:

1. CaCl_2 -Lösungen mit 2, 4, 6 und 7 mval Ca/l
2. doppelt serumisotone Lösungen mit 294 mval Na^+ , 10 mval K^+ , 28,5 mval HCO_3^- /l und Cl^- als Anion, Mg und Phosphat blieben unberücksichtigt.

3. Indikatorlösung: 10^{-4} mol Murexidlösung (15,1 mg/50 ml).

Da Murexid und auch der Murexid-Calcium-Komplex sehr instabil sind (RAAFLAUB 1951, ETTORI u. SCOGGAN 1958), mußte 1. die Murexidlösung täglich frisch angesetzt werden und 2. die Messung der Extinktionen immer nach dem gleichen Zeitintervall erfolgen.

Zur Messung wurden je 0,5 ml der Lösung 1 und 2 mit 0,05 ml Indikatorlösung gemischt, 10 Minuten lang mit CO_2/O_2 -Gasgemischen äquilibriert, in verschlossenen Mikroküvetten die Extinktion bei 480 und 540 nm gegen Wasser gemessen und anschließend sofort der pH-Wert bestimmt. Der Leerwert enthielt anstelle der CaCl_2 -Lösung 0,5 ml aqua bidest. und wurde genau wie der Meßwert behandelt. Zur Herstellung der Eichkurven wurde der Quotient aus der Extinktion bei 480 und 540 nm gegen die Calciumkonzentration in mval/l aufgetragen. Durch diese "Zwei-Wellenlängen-Methode" wurden Meßfehler durch geringe Schwankungen in der Indikatorkonzentration vermieden (ETTORI u. SCOGGAN 1958). Für unterschiedliche pH-Werte ergaben sich Kurven mit unterschiedlicher Steigung, auch der Leerwert war pH-abhängig (Abb. 2).

Die angegebenen Kurven waren Mittelwerte von vier Eichkurven mit jeweils Doppelbestimmungen. Die Fehlerbreite betrug bei 2,5 mval Ca/l $\pm 0,2$ mval, d.h. 10 %. Die Kurven waren praktisch identisch mit denjenigen von RAAFLAUB 1951.

Bei der Anwendung im Serum wurde je 1 ml Serum mit 0,05 ml Indikatorlösung versetzt, mit CO_2 verschiedener Konzentrationen (2 - 12 %) äquilibriert, in verschlossenen Mikroküvetten die Extinktion bei 480 und 540 nm gegen 1 ml Serum + 0,05 ml H_2O gemessen und der pH-Wert bestimmt. Auf der Eichkurve des jeweiligen pH-Wertes wurden die Ca^{++} -Werte an Hand des Quotienten 480/540 abgelesen.

Eine Anwendung in nichtikterischen Seren erschien möglich, wenn auch die große Fehlerbreite der Methode eine verlässliche Bestimmung der pH-Abhängigkeit des Ca^{++} unmöglich machte (Tab. 1). Die Anwendung in ikterischen Seren führte zu keinem Ergebnis, da der Quotient 480/540 niedriger als der Leerwert war (Tab. 1). Bei einer Aufzeichnung der Spektren von Murexidlösung, Ca-Murexidlösung, Serum und Serum + Murexidlösung zeigte sich folgendes (Abb. 3):

1. Gegenüber dem Leerwert verschob sich das Absorptionsmaximum bei Calciumanwesenheit in den kürzerwelligen Bereich, die Extinktion nahm zu, der Quotient 480/540 stieg an (Kurve I u. II).
2. Serum hatte bei 480 und 540 nm eine deutliche Absorption, die auf Bilirubin beruhte (Kurve III u. V).

3. Bei Zusatz von Murexidlösung zu Serum ergab sich bei einem Bilirubingehalt von 0,9 mg% ein noch meßbarer Anstieg der Extinktionen (Kurve IV), während bei einem höheren Bilirubingehalt (4,5 mg%) das Murexidspektrum vom Bilirubinspektrum überlagert wurde (Kurve VI). Ein Anstieg der Extinktionen war nicht mehr meßbar.

Da bei Neugeborenen häufig erhöhte Bilirubinwerte vorliegen, kam eine Anwendung der Murexidreaktion im Serum nicht in Frage.

Eine Anwendung in Ultrafiltraten, die zwar grundsätzlich möglich ist (ROSE 1957, LUMB 1963 u. a.), da Ultrafiltrate wässrigen Lösungen entsprechen, schied für Neugeborene aus, da zu große Serummengen zur Gewinnung von mindestens 2 ml Ultrafiltrat nötig waren.

4. pH-MESSUNG

Die pH-Messung erfolgte mit einer Ultramikro-Glaselektrode (Instrumentation Lab. Inc. Boston, IL 113).

5. EIWEISSBESTIMMUNG

Die Eiweißbestimmung im Serum erfolgte mit der Biuretmethode, die Ultrafiltrate wurden mit der Eiweißprobe nach Folin-Ciocalteu in der Modifikation v. ZAK u. COHEN 1961 auf Eiweiß kontrolliert.

6. BERECHNUNGEN UND STATISTIK

Das ultrafiltrable Calcium wurde in mval/l Ultrafiltrat bzw. in % des Gesamtcalciums angegeben, eine Umrechnung auf Plasmawasser und Berücksichtigung des Donnangleichgewichtes erfolgte nicht.

Die den jeweiligen Bestimmungen des ultrafiltrablen Calciums zugrundegelegten pH-Werte sind die Mittelwerte aus den Messungen vor und nach dem Zentrifugieren.

Die statistischen Berechnungen wurden nach den Angaben der DOCUMENTA GEIGY, Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage, vorgenommen.

V. VERSUCHSGANG

1. SERUMGEWINNUNG

Venöses Blut von gesunden Erwachsenen wurde in Glasspritzen abgenommen und nach vollständiger Gerinnung bei 3000 rpm zentrifugiert. Das Serum wurde entweder sofort weiter verarbeitet oder für 12 - 24 Stunden bei -18°C aufbewahrt. Nabelschnurblut gesunder Neugeborener wurde der Nabelvene entnommen und das Serum wie oben gewonnen. Die Aufbewahrung bei -18°C änderte die Ergebnisse nicht, wie bei Kontrollen festgestellt wurde.

2. ÄQUILIBRIERUNGSVERFAHREN

Um die pH-Anhängigkeit des ultrafiltrablen Calciums zu prüfen, wurden je 1 - 2 ml Serum 10 Min. lang mit Gasgemischen mit bekannter CO_2 -Konzentration (2 - 12 % CO_2 , Rest N_2 u. O_2) äquilibriert, anschließend der pH-Wert gemessen und das Serum möglichst schnell ohne Luftkontakt unter Paraffin in die Kammer eingefüllt. Nach 1 1/2 - 2stündigem Zentrifugieren bei 6000 rpm und $35 - 37^{\circ}\text{C}$ konnte aus der unteren Kammer klares Filtrat abgezogen werden zur Calcium- und Eiweißbestimmung. Im Serumrest wurde der pH-Wert erneut bestimmt.

Die pH-Messung vor und nach dem Zentrifugieren ergab bei Ausgangswerten zwischen pH 7,0 - 7,8 einen pH-Anstieg von 0,01 - 0,1 Einheiten, im Mittel von 0,05. Eine streng anaerobe Trennung gelang also nicht. Je größer die verfügbare Serummenge für eine Einzelfiltration war, desto besser blieb der ursprüngliche pH-Wert erhalten. Eine Verkürzung der Zentrifugationsdauer brachte ebenfalls bessere Resultate im Hinblick auf die pH-Stabilität. Da aber zur exakten Calcium- und Eiweißbestimmung mindestens 0,15 ml Ultrafiltrat notwendig waren, konnten bei 6000 rpm 1 1/2 Stunden Zentrifugation nicht unterschritten werden. Wenn nur Calcium bestimmt werden sollte, reichte einstündiges Zentrifugieren aus. Unterschiede in der Menge des uf. Ca bei ein- oder zweistündigem Zentrifugieren zeigten sich nicht.

Um den Filtrationsdruck möglichst hoch zu halten, wurde bei geringen Serum-

mengen die Kammer mit Paraffin aufgefüllt. Die Ultrafiltration erbrachte dann 0,1 - 0,2 ml eiweißfreies Filtrat. Da die Ultrafiltration in relativ kurzer Zeit ablief und nur geringe Mengen Serumwasser abfiltriert wurden, wurde eine Gleichgewichtsverschiebung der einzelnen Fraktionen weitgehend vermieden (AMBARD u. TRAUTMAN 1960).

VI. ERGEBNISSE

Es wurde Serum von gesunden Erwachsenen ($n = 8$), aus Nabelschnurblutproben ($n = 19$) und von 4 - 9 Tage alten Neugeborenen ($n = 5$) auf Gesamtcalcium, ultrafiltrables Calcium bei verschiedenen pH-Werten und auf Gesamteiweiß untersucht. Außerdem wurde in fünf Blutproben eines Neugeborenen mit Ikterus neonatorum vor und nach dreimaliger Austauschtransfusion die Konzentration des Gesamt-, ultrafiltrablen und ionisierten Calciums bestimmt.

1. ERWACHSENENBLUT (Tab. 2)

Die Gesamtcalciumkonzentration in den Erwachsenenserum betrug zwischen 4,56 - 5,11 mval/l. Die Bestimmung der Konzentration des ultrafiltrablen Calciums bei mehreren pH-Werten zwischen pH 7,1 - 7,8 zeigte eine lineare Abhängigkeit von der H^+ -Aktivität sowohl für die einzelnen Individuen als auch für die ganze Gruppe.

Die Zunahme der Konzentration des ultrafiltrablen Calciums zwischen pH 7,6 - 7,1 betrug für die einzelnen zwischen 0,45 - 0,75 mval/l (Tab. 2) mit einem ultrafiltrablen Calcium von 2,43 - 2,60 mval/l bei pH 7,4.

Der Regressionskoeffizient für die Gruppe betrug bei einem $\bar{x} = 44,66$ (nmol H^+ /l) und $\bar{y} = 2,52$ (mval Ca/l) $b = 0,011$ mval Ca/nmol H^+ . Der Wert war statistisch signifikant ($p < 0,0005$). (Abb. 4 I).

Die Gesamteiweißkonzentration lag zwischen 6,4 - 6,8 g%. Eine Beziehung zwischen Gesamteiweiß und ultrafiltrablem oder nichtultrafiltrablem Calcium ließ sich nicht feststellen. Dagegen verhielt sich das nichtultrafiltrable Calcium direkt proportional zum Gesamtcalcium.

2. NABELSCHNURBLUT (Tab. 3)

Die Gesamtcalciumkonzentration in Nabelschnurseren betrug zwischen 4,54 - 5,8 mval/l. Die Bestimmung der Konzentration des ultrafiltrablen Calciums bei verschiedenen pH-Werten zeigte für die einzelnen Individuen eine deutliche lineare Abhängigkeit von der H^+ -Aktivität, die Zunahme betrug zwischen pH 7,6 - 7,1 etwa 0,4 - 1,2 mval Ca/l Ultrafiltrat (Tab. 3) mit einem ultrafiltrablen Calcium von 1,58 - 3,25 mval/l bei pH 7,3, dem für Nabelschnurblut physiologischen pH-Wert (BARTELS u. WULF 1963).

Die Absolutwerte schwankten beträchtlich. Der Regressionskoeffizient für die gesamte Gruppe betrug bei einem $\bar{x} = 49,52$ (nmol H^+ /l) und einem $\bar{y} = 2,56$ (mval Ca/l Ultrafiltrat) $b = 0,0066$ mval Ca/nmol H^+ (Abb. 4 II). Der Wert war statistisch nicht zu sichern ($p < 0,25$).

Die Serumgesamteiweißkonzentration betrug zwischen 4,8 - 6,4 g%. Eine Beziehung zwischen dem Gesamteiweiß und den Calciumfraktionen ließ sich wie bei den Erwachsenen nicht feststellen. Eine Abhängigkeit des nichtdiffusiblen Calciums vom Gesamtcalcium war nachzuweisen, war aber nicht so ausgeprägt wie bei den Erwachsenen.

3. BLUT 4 - 9 TAGE ALTER NEUGEBORENER (Tab. 4)

Die Gesamtcalciumkonzentration im Serum 4 - 9 Tage alter Neugeborener betrug zwischen 4,07 - 5,06 mval/l. Die Konzentration des ultrafiltrablen Calciums zeigte eine lineare Abhängigkeit von der H^+ -Aktivität des Serums sowohl für die einzelnen Individuen als auch für die ganze Gruppe. Der Konzentrationsanstieg des ultrafiltrablen Calciums betrug zwischen pH 7,6 - 7,1 für die einzelnen Proben 0,42 - 1,09 mval/l Ultrafiltrat mit einem ultrafiltrablen Calcium von 2,46 - 2,66 mval/l Ultrafiltrat bei einem pH-Wert von 7,4.

Der Regressionskoeffizient für die Gruppe betrug bei einem $\bar{x} = 50,54$ nmol H^+ /l und einem $\bar{y} = 2,59$ mval Ca/l $b = 0,0159$ mval Ca/nmol H^+ . Der Wert war statistisch signifikant ($p < 0,0005$). (Abb. 4 III).

Die Gesamteiweißkonzentration zeigte bei Werten zwischen 5,1 - 6,4 g% keine Beziehung zur Konzentration des ultrafiltrablen Calciums. Dagegen verhielt sich die Konzentration des nichtultrafiltrablen Calciums direkt proportional zur Konzentration des Gesamtcalciums.

Weder in den Erwachsenen- noch in den Nabelschnur- oder Neugeborenenseren

ließ sich eine Übereinstimmung zwischen den gemessenen und den nach McLEAN u. HASTINGS (1935), ZEISLER (1954) oder HANNA et al (1964) berechneten Werten für das ionisierte bzw. das ultrafiltrable Calcium feststellen.

4. AUSTAUSCHBLUT (Tab. 5)

Die Calciumkonzentration im Serum eines 3 Tage alten Neugeborenen betrug 5,05 mval/l mit einem ultrafiltrablen Calcium von 3,36 mval/l Ultrafiltrat. Davon lagen bei pH 7,35: 2,14 mval als Ca^{++} vor.

Nach der ersten Austauschtransfusion (450 ml Citratblut) und einer dabei nach klinischer Indikation vorgenommenen Calciumglukonatzufuhr betrug die Konzentration des Serumgesamtcalciums 12,58 mval/l. Davon waren 11,57 mval/l ultrafiltrabel und 3,75 mval/l ionisiert.

Zwischen den Austauschtransfusionen fielen das Gesamtcalcium und auch die einzelnen Fraktionen ab (Tab. 5). Am Tage nach dem 3. Blutaustausch lag die Serumcalciumkonzentration bei 9,45 mval/l, das ultrafiltrable Calcium betrug 7,8 mval/l, nur das ionisierte Calcium (2,18 mval/l) hatte den Ausgangswert wieder erreicht.

VII. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

1. ERWACHSENENBLUT

Bei einer Betrachtung der Ergebnisse der Calciumanalysen im Serum Erwachsener zeigte sich, daß bei gesunden, normocalcämischen Individuen das ultrafiltrable Calcium unabhängig vom Gesamtcalcium im physiologischen pH-Bereich eine konstante Größe war, die sich auch bei wiederholten Untersuchungen eines Individuums als konstant erwies. Dieser Befund war zu erwarten, da die ultrafiltrable Fraktion des Serumcalciums zum größten Teil aus den physiologisch aktiven Ca^{++} besteht, deren Höhe der Organismus unter "steady-state"-Bedingungen in engen Grenzen aufrecht erhält (MOORE 1966), um die Membranerregbarkeit in normalen Grenzen zu halten. Das eiweißgebundene Calcium variierte dagegen mit dem Gesamtcalcium, es stellte folglich die Reserve dar, die bei Bedarf schnell verfügbar ist im Gegensatz zu dem im Knochen fixierten Calcium.

Die signifikante Variation des ultrafiltrablen Calciums mit der H^{+} -Aktivität führte unter physiologischen Bedingungen noch nicht zu Tetanie auslösenden Werten. Aber bei ausgeprägten Alkalosen metabolischer oder respiratorischer Genese ist ein Absinken des ultrafiltrablen Calciums auf Werte, die zur normalen Membranfunktion nicht ausreichen, möglich. Die pH-abhängige Variation konnte kein reiner Proteinbindungseffekt sein, da eine Beziehung zur Höhe des Gesamteiweißes nicht bestand. Außerdem berichtete MOORE 1966 von ähnlichen Variationen des ionisierten Calciums im Gesamtserum und auch im Ultrafiltrat. Dieser Befund kann zu der Annahme berechtigen, daß auch die hier gemessenen Änderungen vorwiegend auf Änderungen des ionisierten Calciums zurückzuführen sind, obwohl nur das ultrafiltrable Calcium gemessen werden konnte.

Bei einer Zusammenstellung der Literatur über das ultrafiltrable Calcium in menschlichen Normalseren (Tab. 6) fanden sich recht unterschiedliche Angaben.

Zum größten Teil sind diese Unterschiede methodisch bedingt durch:

1. unterschiedliche Calciumbestimmungen,
2. Gewinnung von Ultrafiltraten bei unterschiedlichem oder während der Filtration nicht konstantem pH-Wert,
3. extrem lange Filtrationszeiten, die zu Gleichgewichtsverschiebungen führen können,

4. Temperaturunterschiede.

Es muß also für jede Methode ein Normalwert ermittelt werden. Da mit der beschriebenen Methode

1. konstante Werte für das ultrafiltrable Calcium im physiologischen pH-Bereich,
2. reproduzierbare Variationen mit dem Aciditätsgrad erhalten wurden,
3. die Werte für das ultrafiltrable Calcium im Bereich der bisher mitgeteilten Größenordnung liegen, kann sie als für kleine Serummenngen brauchbare Methode angesehen werden, die in relativ kurzer Zeit die Bestimmung mehrerer Proben gleichzeitig gestattet und damit auch wiederholte Untersuchungen bei Säuglingen ermöglicht.

2. NABELSCHNURBLUT

Gegenüber den Calciumbestimmungen im Erwachsenenserum wiesen die Werte aus Nabelschnurblutproben zwei Unterschiede auf:

1. die Gesamtcalciumkonzentration lag im Mittel höher,
2. das ultrafiltrable Calcium und seine pH-Abhängigkeit streuten beträchtlich.

Über höhere Calciumkonzentrationen im Nabelschnurblut wurde auch von anderen Autoren berichtet (ANDERSCH u. OBERST 1936, MULL 1936, BAKWIN 1937, TODD et al 1939, WILLI 1939, HALLMAN u. SALMI 1953, SALMI 1954). Als Ursache ist neben einer aktiven Sekretion durch die Placenta (COMAR 1956) eine Mobilisierung von Calcium aus den Knochen durch die Acidose unter der Geburt möglich (SALMI 1954).

Postnatal kommt es zu einer Refixierung von Calcium im Knochen und damit zu der erwähnten "physiologischen Hypocalcämie", deren Grad u.a. abhängig ist von der Funktionstüchtigkeit der Parathyreoidea und der baldigen Ernährung des Neugeborenen. Andererseits berichteten GITTLEMAN et al 1956 von vermehrt auftretenden Hypocalcämien nach pathologischem Geburtsverlauf.

Bei den eigenen Untersuchungen 4 - 9 Tage alten Neugeborener zeigte sich die oben angeführte "Hypocalcämie" ebenfalls: die mittlere Serumcalciumkonzentration betrug 4,5 mval/l gegenüber 5,25 mval/l im Nabelschnurblut.

Die breite Streuung der Konzentration des ultrafiltrablen Calciums und seiner Variation mit dem Aciditätsgrad warf die Frage nach einer Ursache auf. Ein Zusammenhang zwischen der Serumeiweißkonzentration und dem Verhalten der Calciumfraktionen ließ sich nicht feststellen. Auch zwischen den Absolutwerten des ultrafiltrablen Calciums und der Zunahme/0,5 pH-Einheiten bestand keine Beziehung.

Bei der kleinen Serie von Calciumanalysen im Serum 4 - 9 Tage alter Neugeborener (Tab. 4), die den Geburtsstress überwunden hatten, zeigte sich ein Verhalten des ultrafiltrablen Calciums, das dem im Serum Erwachsener in den Absolutwerten und in der Steigung und deren Streuung entsprach (Abb. 4 III): der Unterschied in der Steigung ließ sich statistisch nicht sichern. Die Ursache für die abweichenden Ergebnisse in Nabelschnurblutproben ist also in den veränderten Stoffwechselbedingungen unter der Geburt zu suchen.

Zu diskutieren wäre u. U. eine veränderte Bindungsfähigkeit des Eiweißes für Calcium während der Geburtsacidose.

Wesentlicher scheint aber der durch die Hypoxämie bei Mutter und Kind bedingte erhöhte Anfall organischer Säuren des Citronensäurecyclus zu sein, der zu einer Bildung von Calciumkomplexen führt. Diese Calciumkomplexe sind ultrafiltrabel, - daher die hohen Werte des ultrafiltrablen Calciums in zahlreichen Nabelschnurblutproben, - aber für die physiologische Wirkung steht dieses Calcium nicht mehr zur Verfügung: in Tierversuchen (Kaninchen) wiesen SHELLING u. MASLOW 1928 das Auftreten von Krämpfen bei einem Anstieg des ultrafiltrablen Calciums nach im Anschluß an Injektionen von Natriumcitrat und, wenn auch geringer, von Natriumlaktat. Da die Belastung der einzelnen Neugeborenen auch durch die normale Geburt unterschiedlich ist, ist die breite Streuung der Ergebnisse erklärlich. Sie können einen Hinweis dafür geben, daß bei zusätzlichen Störungen exo- oder endogener Art die physiologisch einsetzende Regulation bei der postnatal einsetzenden Reduktion des Serumcalciums nicht ausreicht und die Calciumionen-Konzentration nicht in normalen Grenzen aufrechterhalten werden kann. Es könnte also sowohl durch respiratorisch-metabolische Acidosen bei mangelhafter Atmung als auch durch respiratorische Alkalosen bei Hyperventilation zu einer Abnahme der Calciumionen mit der Entwicklung von Tetanien kommen.

3. AUSTAUSCHBLUT

Eine kurze Betrachtung der Konzentrationen der Serumcalciumwerte während eines Blutaustausches zeigt, daß große Mengen an Calciumgluconat zugeführt werden müssen, um die Calciumkonzentration auf einen Wert anzuheben, der eine Tetanie verhindert. Andererseits sollte eine excessive Calciumzufuhr vermieden werden, da seine Ausscheidung eine zusätzliche Belastung für das Neugeborene darstellt.

Aus den Ausführungen geht hervor, daß die Kenntnis der Serumcalciumfraktionen im Neugeborenenalter wichtige Aufschlüsse geben wird. Eine zuverlässige Mikromethode zur Bestimmung der Calciumkonzentration liegt vor. Das beschriebene Ultrafiltrationsverfahren zur Erfassung der diffusiblen Fraktionen ist beim Neugeborenen anwendbar. Die neuerdings verfügbare calciumspezifische Elektrode (MOORE 1966) sollte die wichtigste Schlüsselgröße, die Calciumionenkonzentration, liefern können, nachdem sich alle bisher verwandten Methoden zu ihrer Bestimmung als unzureichend erwiesen.

Weitere Untersuchungen sollten folgende Fragen klären: Wie verhält sich die Serumcalciumionenkonzentration in der Periode unmittelbar nach der Geburt beim Ausgetragenen, beim Frühgeborenen und bei Kindern, die einem massiven Geburtsstress ausgesetzt waren? Welche Bedeutung hat die "physiologische" Hypocalcämie des Neugeborenen? Wie verhalten sich die Calciumfraktionen unter und nach einer Blutaustauschtransfusion?

Ist die Menge an komplexgebundenem Calcium vielleicht ein weiteres Maß für die Schwere der Geburt?

Die Calciumtherapie im Neugeborenenalter beruht bisher auf Empirie mit nicht immer befriedigendem Ergebnis. Die angeregten Untersuchungen sollten eine verlässlichere Basis geben.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Nach einer Darstellung der physiologischen Zusammenhänge im Calciumstoffwechsel und einer Literaturübersicht wurde über eine Methode zur Ultrafiltration kleiner Serumengen (1 - 2 ml) unter weitgehend anaeroben Bedingungen berichtet.

Mit dieser Methode wurde die Konzentration des ultrafiltrablen Calciums im Serum von Erwachsenen ($n = 8$), in Nabelschnurblutproben ($n = 19$) und im Serum von 4 - 9 Tage alten Neugeborenen ($n = 5$) bei verschiedenen in vitro erzeugten pH-Werten untersucht. Es zeigte sich eine lineare Abhängigkeit des ultrafiltrablen Calciums von der H^+ -Aktivität zwischen pH 7,8 - 7,0.

Die mittlere Serumcalciumkonzentration betrug:

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| 1. bei Erwachsenen | 4,84 (4,56 - 5,11) mval Ca/l, |
| 2. in Nabelschnurblutproben | 5,25 (4,54 - 5,80) mval Ca/l, |
| 3. bei 4 - 9 Tage alten Neugeborenen | 4,53 (4,07 - 5,06) mval Ca/l. |

Die mittlere Konzentration des ultrafiltrablen Calciums betrug im Serum von:

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. Erwachsenen bei pH 7,4 | 2,51 (2,43 - 2,60) mval Ca/l Uf., |
| 2. Nabelschnurblutproben bei pH 7,3 | 2,66 (1,58 - 3,52) mval Ca/l Uf., |
| 3. 4 - 9 Tage alten Neugeborenen
bei pH 7,4 | 2,53 (2,46 - 2,66) mval Ca/l Uf.. |

Die Zunahme des ultrafiltrablen Calciums bei einer Abnahme des Serum-pH-Wertes um 0,5 Einheiten betrug im Mittel:

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. im Erwachsenenserum | 0,59 (0,45 - 0,75) mval Ca/l Uf., |
| 2. im Nabelschnurserum | 0,73 (0,38 - 1,23) mval Ca/l Uf., |
| 3. im Serum 4 - 9 Tage alter
Neugeborener | 0,79 (0,47 - 1,09) mval Ca/l Uf.. |

Da die Streuung aller drei Größen in den Nabelschnurblutproben wesentlich ausgeprägter war als in den beiden anderen Gruppen, wurde vermutet, daß dieses Verhalten bedingt war durch die unter der Geburt veränderte Stoffwechsellage, da das Verhalten der Calciumfraktionen im Serum der 4 - 9 Tage alten Neugeborenen dem im Serum Erwachsener entsprach.

Eine Übereinstimmung der gemessenen Werte für die Konzentration des ultrafiltrablen Calciums mit Werten, die nach McLEAN u. HASTINGS 1935, ZEISLER 1954 oder HANNA et al 1964 berechnet wurden, ließ sich nicht fest-

stellen.

Die Murexidmethode zur Bestimmung der Konzentration des ionisierten Calciums im Serum lieferte zu ungenaue und nicht reproduzierbare Werte. Eine Bilirubin-erhöhung machte die Methode unbrauchbar.

In der Diskussion wurde dargelegt, daß die Kenntnis der Calciumfraktionen im Neugeborenenalter bedeutsam sein kann.

IX. LITERATURVERZEICHNIS

1. AMBARD, L., and S. TRAUTMAN:
Ultrafiltration. p. 12, 18.
Charles C. Trautmann Publ. U.S.A. (1960)
2. ANDERSCH, M., and F. W. OBERST:
Filterable serum calcium in late pregnant and parturient women, and
in the newborn.
J. Clin. Invest. 15: 131 - 133 (1936)
3. BAKER, R., G. REAVEN, and J. SAWYER:
Effect of toluidine blue on metastatic calcification.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 83: 281 - 284 (1953)
4. BAKWIN, H.:
Pathogenesis of tetany of the newborn.
Am. J. Dis. Child. 54: 1211 - 1226 (1937)
5. BARTELS, H. und H. WULF:
Physiologie des Gasaustausches in der Placenta des Menschen.
In: F. Linneweh: Fortschritte der Pädologie, Band 1: S. 124 - 146.
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1965
6. BETT, I. M., and G. P. FRASER:
Rapid micro method for determining serum calcium.
Biochem. J. 68: 13 P. (1958)
7. BOHR, D. F.:
Electrolytes and smooth muscle contraction.
Pharmac. Rev. 16: 85 - 111 (1964)
8. BREEN, M., and S. FREEMANN:
The use of high centrifugal force in separating plasma calcium into
its protein bound and protein free fraction.
Clin. Chim. Acta 6: 181 - 187 (1961)

9. BROWN, E.B. jr.:
Physiological effects of hyperventilation.
Physiol. Rev. 33: 445 - 471 (1953)
10. BRUCK, E., and D.H. WEINTRAUB:
Serum calcium and phosphorus in premature and fullterm infants.
A. M. A. Am. J. Dis. Child. 90: 653 - 668 (1955)
11. CLARK, E.P., and J.B. COLLIP:
A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with a suggested modification.
J. Biol. Chem. 63: 461 - 464 (1925)
12. COMAR, C.L.:
Radiocalcium studies in pregnancy.
Ann. N.Y. Acad. Sc. 64: 281 - 298 (1956)
13. COOLIDGE, T.B.:
A micro calcium method accurate in the presence of magnesium and phosphate.
Analyt. Biochem. 1: 93 - 95 (1960)
14. CRAIG, W.S.:
Clinical signs of neonatal tetany: with especial reference to their occurrence in newborn infants of diabetic mothers.
Pediatrics 22: 297 - 308 (1958)
15. CRAIG, W.S., and M.F. BUCHANAN:
Hypocalcaemic tetany developing within 36^h of birth.
Arch. Dis. Childh. 33: 505 - 511 (1958)
16. DILLMANN, L.M., and M.B. VISSCHER:
The calcium content of ultrafiltrates of plasma and the influence of changes in hydrogen and bicarbonate ion concentrations upon it.
J. Biol. Chem. 103: 791 - 799 (1933)
17. DODD, K., and S. RAPOPORT:
Hypocalcemia in the neonatal period.
Am. J. Dis. Child. 78: 537 - 560 (1949)
18. EPPENDORF:
Mikroliter-System. Calcium im Serum (AV 300 MV) Hamburg

19. ETTORI, J., and S.M.SCOGGAN:
Metal ions in biological systems. A determination of pM by spectrophotometry of metal indicators at two wavelengths.
Arch. Biochem. Biophys. 78: 213 - 220 (1958)
20. ETTORI, J., and S.M.SCOGGAN:
Ionized calcium in biological media.
Nature, Lond. 184, Suppl. 17: 1315 - 1316 (1959)
21. FANCONI, A., and G.A.ROSE:
The ionized, complexed, and protein bound fractions of calcium in plasma, an investigation of patients with various diseases which affect calcium metabolism, with an additional study of the role of calcium ions in the prevention of tetany.
Quart. J. Med. 27: 463 - 494 (1958)
22. FOURMAN, P.:
Experimental observations on the tetany of potassium deficiency.
Lancet 1954 II: 525 - 528
23. FOURMAN, P.:
Calciumstoffwechsel und Knochenkrankheiten.
Deutsche erweiterte Ausgabe. Übersetzt und bearbeitet von N. Zöllner, München.
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1963
24. GEIGY, J.R.:
Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen. 6. Auflage. Basel 1960
25. GITTLEMAN, I.F., J.B.PINCUS, E.SCHMERZLER, and M.SAITO:
Hypocalcemia occurring on the first day of life in mature and premature infants.
Pediatrics 18: 721 - 729 (1956)
26. GOLDSTEIN, D., and C.STARK-MAYER:
New specific test for calcium.
Analytica Chim. Acta 19: 437 - 439 (1958)
27. GRANT, S.B., and A.GOLDMAN:
A study of forced respiration; Experimental production of tetany.
Am. J. Physiol. 52: 209 - 232 (1920)
28. GREENBERG, D.M., and L.GUNTHER:
On the determination of diffusible and non diffusible serum calcium.
J. Biol. Chem. 85: 491 - 508 (1930)

29. GRIBETZ, D.:
Hypocalcemic states in infancy and childhood.
A. M. A. Am. J. Dis. Child. 94: 301 - 312 (1957)
30. GRIFFITH, J.P.C.:
Blood calcium in spasmophilia. Spasmophilic manifestations in an infant of five weeks.
J. Am. Med. Ass. 86: 828 - 830 (1926)
31. GYÖRGY, P., L. A. BARNES, and A. OSKI:
Tetany without rickets in young infants: Non-neonatal tetany.
Ann. Paediat. 202: 407 - 413 (1964)
32. HALLMANN, N., and I. SALMI:
On plasma calcium in cord blood and in the newborn.
A preliminary report.
Acta Paediat., Stockholm, 42: 126 - 129 (1953)
33. HANNA, E. A., H. O. NICHOLAS, and J. A. CHAMBERLIN:
Nomogram for estimating diffusible serum calcium.
Clin. Chem. 10: 235 - 240 (1964)
34. HARNACH, F., and T. B. COOLIDGE:
Determination of ionized calcium in serum with murexide.
Analyt. Biochem. 6: 477 - 485 (1963)
35. HARNAPP, G. O.:
Die Bestimmung von Calciumionenaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten.
Klin. Wschr. 17: 1731 - 1736 (1938)
36. HARNAPP, G. O.:
Zur Wirkung von Vitamin D und Prednison auf das Körpercalcium.
Arch. Kinderheilk. 174: 112 - 121 (1966)
37. HATTINGBERG, H. M. v. und W. KLAUS:
Trennung des proteingebundenen vom frei diffusiblen Calcium im Serum durch Sephadex.
Klin. Wschr. 44: 499 - 503 (1966)
38. HÖBER, R.:
Physical chemistry of cells and tissues. p. 303
Philadelphia Blakiston Co. (1945)

39. HOPKINS, T., J.E.HOWARD, and H.EISENBERG:
Ultrafiltration studies on calcium and phosphorus in human serum.
Bull. Johns Hopkins Hosp. 91: 1 - 21 (1952)
40. KEHRER, E.:
Die geburtshilflich-gynäkologische Bedeutung der Tetanie.
Arch. Gynäkol. 99: 372 - 447 (1913)
41. KENNY, A.D., and S.U.TOVERUD:
Noninterference of phosphate in an ethylenediamine tetraacetate
method for serum calcium.
Analyt. Chem. 26: 1059 (1954)
42. KRAMER, B., and F.F.TISDALL:
A simple technique for the determination of calcium and magnesium
in small amounts of serum.
J. Biol. Chem. 47: 475 - 481 (1921)
43. LAVITIES, P.H.:
Anaerobic ultrafiltration.
J. Biol. Chem. 120: 267 - 275 (1937)
44. LOKEN, H.F., R.J.HAVEL, G.S.GORDAN, and S.L.WHITTINGTON:
Ultracentrifugal analysis of protein bound and free calcium in human
serum.
J. Biol. Chem. 235: 3654 - 3658 (1960)
45. LUMB, G. A.:
Determination of ionic calcium in serum.
Clin. Chim. Acta 8: 33 - 38 (1963)
46. McLEAN, F.C., and A.B.HASTINGS:
A biological method for the estimation of calcium ion concentration.
J. Biol. Chem. 107: 337 - 350 (1934)
47. McLEAN, F.C., and A.B.HASTINGS:
The state of calcium in the fluids of the body.
I. The conditions affecting the ionisation of calcium.
J. Biol. Chem. 108: 285 - 322 (1935)
48. MEYSENBUG, L.v., A.M.PAPPENHEIMER, T.F.ZUCKER, and M.F.MURRAY:
The diffusible calcium of the blood serum I.
J. Biol. Chem. 47: 529 - 539 (1921)

49. MOORE, E. W.:
Ionized calcium in normal serum ultrafiltrates and whole blood directly determined by ion-exchange electrodes.
J. Clin. Invest. 45: 1047 - 1048 (1966)
50. MULL, J. W.:
Variations in serum calcium and phosphorus during pregnancy. III. Effect on fetal circulation.
J. Clin. Invest. 15: 513 (1936)
51. MUNDAY, K. A., and B. W. J. MAHI:
Determination of ultrafiltrable calcium and magnesium on small quantities of plasma.
Clin. Chim. Acta 10: 144 - 151 (1964)
52. NEUMAN, W. F., and M. W. NEUMAN:
Chemical dynamics of bone mineral.
University of Chicago Press, Chicago, Illinois (1958)
53. PIKKARAINEN, J., J. HARRI, and M. SUOMELA:
Determination of ultrafiltrable calcium in normal human serum.
Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 40: 286 - 291 (1962)
54. POULOS, P. P.:
A method for plasma dialysis and its application to the determination of the diffusible fraction of serum.
J. Lab. Clin. Med. 49: 292 - 299 (1957)
55. PRASAD, A. S., E. B. BROWN jr., and E. B. FLINK:
Plasma ultrafiltrable calcium in respiratory alkalosis and acidosis.
Am. J. Physiol. 190: 459 - 461 (1957)
56. PRASAD, A. S., and E. B. FLINK:
Effect of carbon dioxide on concentration of calcium in an ultrafiltrate of serum obtained by centrifugation.
J. Appl. Physiol. 10: 103 - 107 (1957)
57. PRASAD, A. S., and E. B. FLINK:
The base binding property of the serum proteins with respect to calcium.
J. Lab. Clin. Med. 51: 345 - 350 (1958)

58. RAAFLAUB, J.:
Über ein photometrisches Verfahren zur Bestimmung des ionisierten Calciums.
Z. Physiol. Chem. 288: 228 - 236 (1951)
59. RIEGEL, K. und N.M. NELSON:
Unveröffentlichte Befunde 1965
60. RONA, P. und D. TAKAHASHI:
Über das Verhalten des Calciums im Serum und über den Gehalt der Blutkörperchen an Calcium.
Biochem. Z. 31: 336 - 344 (1911)
61. ROSE, G. A.:
Determination of the ionized and ultrafiltrable calcium of normal human plasma.
Clin. Chim. Acta 2: 227 - 236 (1957)
62. ROSENKRANZ, A.:
Das Serumcalcium bei Frühgeborenen.
4. Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für Kinderheilkunde,
Wien im November 1966
63. ROTHLIN, E. und H.v.BIDDER:
Untersuchungen über die Fehlerquellen der Calciumbestimmung nach Kramer-Tisdall. Ein Vorschlag für eine brauchbare Modifikation und für eine exakte Veraschungsmethode.
Helv. Physiol. Pharmacol. Acta 3: 99 - 116 (1945)
64. SALMI, I.:
On the influence of anoxia on plasma calcium; experimental and clinical observations.
Ann. Paediat. Fenn. (Suppl. 2) 1: 1 - 100 (1954)
65. SARTORI, E.:
Die klinische Bedeutung der Calciumfraktionen der Körpersäfte.
Helv. Paediat. Acta 10: 104 - 110 (1955)
66. SAVILLE, P.D., and N. KRETSCHMER:
Neonatal tetany: a report of 125 cases and review of the literature.
Biologia Neonat. 2: 1 - 18 (1960)

67. SCHNEEGANS, E.:
Tétanie du nouveau-né et de la période néonatale.
Strasb. Méd. 15: 96 - 116 (1964)
68. SHANNON, W.R.:
Hyperventilation in the tetany syndrome of the newborn, with special reference to the cyanotic spell.
Arch. Paediat. 52: 501 - 520 (1935)
69. SHELLING, D.H., and H. MASLOW:
The effect of sodium citrate, acetate, and lactate on the ultrafiltrability of serum calcium.
J. Biol. Chem. 78: 661 - 669 (1928)
70. SMITH, C. A.:
The physiology of the newborn infant. p. 291 - 299
Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Illinois, U.S.A.
3. edition 1959
71. SWOBODA, W.:
Neugeborenen- und Frühgspasmophilie.
In: H. Hungerland u. J. Brodehl (Hrsgb.): Kongenitale Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes. Symposium Kassel-Wilhelmshöhe 23./24.2.1961, S. 93 - 107.
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1962)
72. TODD, W.R.:
The diffusible serum calcium in normal individuals and in hyperparathyroid patients treated with Parathormon, Dihydrotachysterol, and Vit. D.
J. Biol. Chem. 140: CXXXIII (1941)
73. TODD, W.R., E.G. CHUINARD, and M.T. WOOD:
Blood calcium and phosphorus in the newborn.
Am. J. Dis. Child. 57: 1278 - 1286 (1939)
74. TORIBARA, T. Y., A.R. TEREPA, and P.A. DEWEY:
The ultrafiltrable calcium of human serum.
I. Ultrafiltration methods and normal values.
J. Clin. Invest. 36: 738 - 748 (1957)

75. UMLAND, F. und K.-U. MECKENSTOCK:
Photometrische Bestimmung kleiner Mengen Calcium mit Glyoxal-
bis-(2-hydroxyanil).
Z. Analyt. Chem. 176: 96 - 110 (1960)
76. UPDEGRAFF, H., D. GREENBERG, and G. W. CLARK:
A study of the distribution of the diffusible and non-diffusible calcium
in the blood sera of normal animals.
J. Biol. Chem. 71: 87 - 117 (1926)
77. WALSER, M.:
Determination of free magnesium ions in body fluids. Improved
methods for free calcium ions, total calcium, and total magnesium.
Analyt. Chem. 32: 711 - 717 (1960)
78. WALSER, M.:
Ion association. VI. Interaction between calcium, magnesium,
inorganic phosphate, citrate, and protein in normal human plasma.
J. Clin. Invest. 40: 723 - 730 (1961)
79. WILKINSON, R. H.:
A micro ultrafiltration apparatus.
J. Clin. Path. 13: 268 - 270 (1960)
80. WILLI, H.:
Die Neugeborenenespiasmophilie.
Mschr. Kinderheilk. 80: 309 - 329 (1939)
81. ZAK, B., and J. COHEN:
Automatic analysis of tissue culture proteins with stable Folin reagents.
Clin. Chim. Acta 665 - 670 (1961)
82. ZEISLER, E. B.:
Determination of diffusible serum calcium.
Am. J. Clin. Path. 24: 588 - 593 (1954)

X. ABBILDUNGEN UND TABELLEN

Abbildung 1

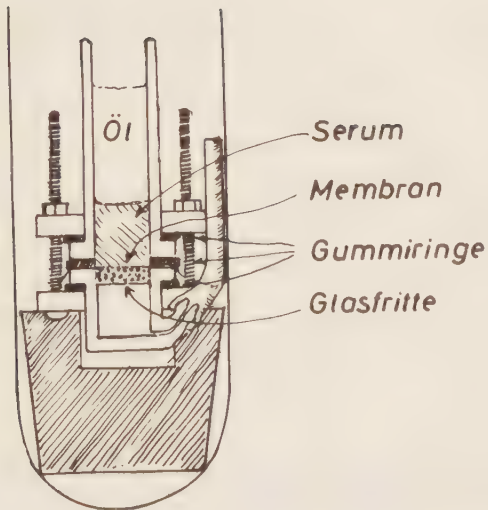


Abb. 1: Kammer zur Ultrafiltration (vergl. Text Kap. IV, 2)
(Die Kammer wurde von der Glasbläserei A. Höhnle,
Tübingen, angefertigt)

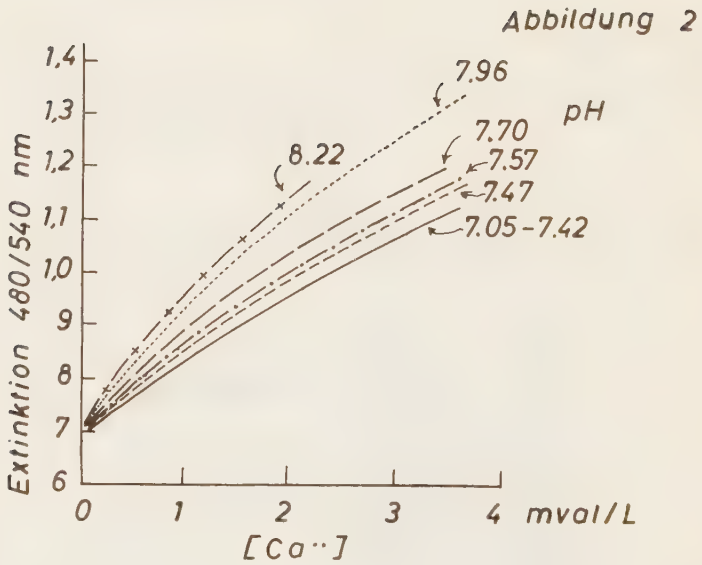


Abb. 2: Eichkurve zur Bestimmung der Ca^{++} mit Murexid in Abhängigkeit vom pH-Wert

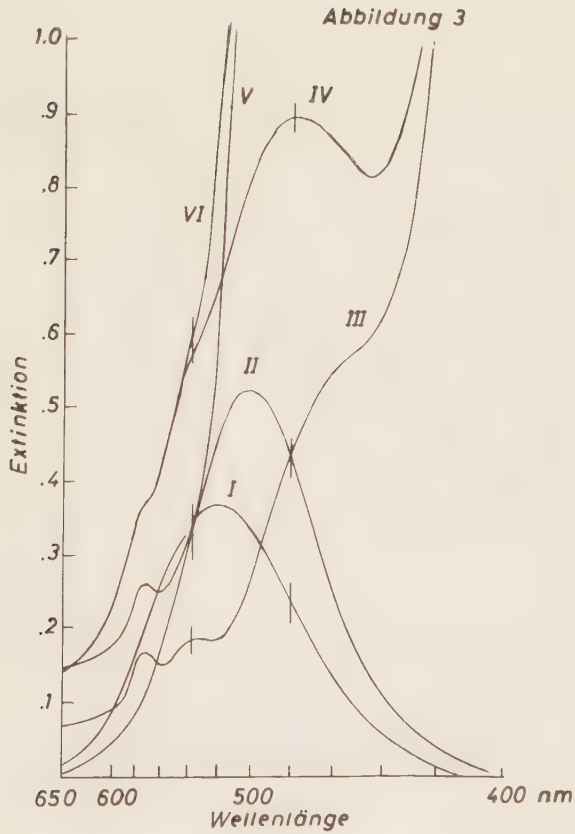


Abb. 3: Ca^{++} -Nachweis mit Murexid in wässriger Lösung und in Serum mit unterschiedlicher Bilirubinkonzentration.
Aufzeichnung der Spektren.

I: Murexid in blutisotonem Puffer (Leerwert)

II: Murexid in blutisotonem Puffer mit 3 mval Ca/l

III: Serum mit 1 mg% Bilirubin

IV: Serum mit 1 mg% Bilirubin und Murexid

V: Serum mit 4,5 mg% Bilirubin

VI: Serum mit 4,5 mg% Bilirubin und Murexid

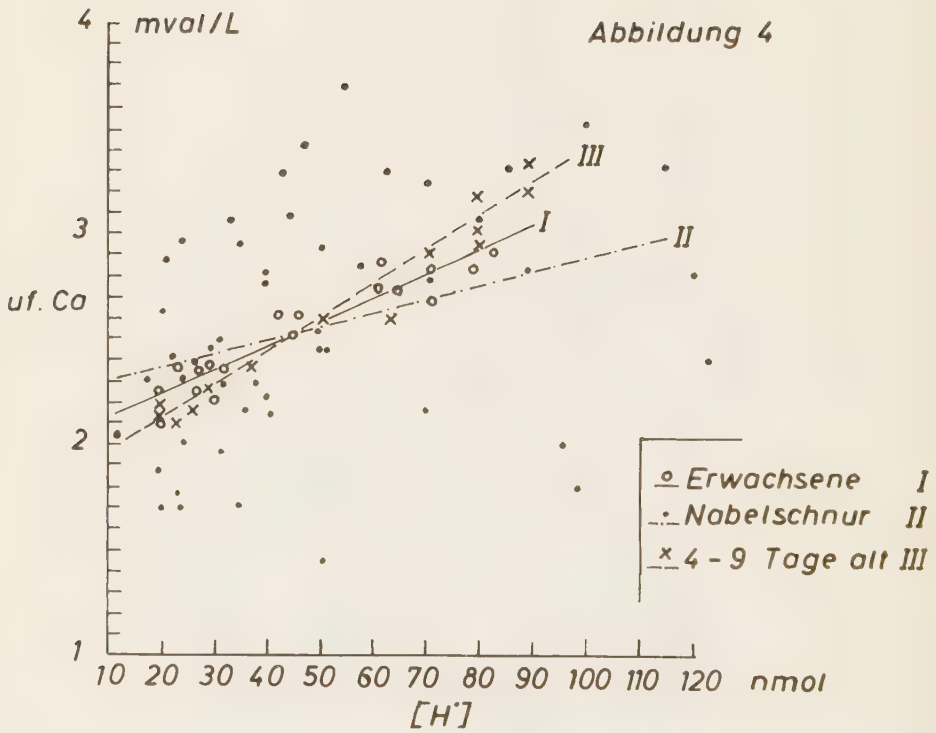


Abb. 4: Ultrafiltrables Calcium im Serum in Abhängigkeit von der H^+ -Konzentration und Lebensalter

Tab. 1: Ca^{++} im Serum, mit der Murexidmethode bestimmt

Nr.	Bilir. mg%	Serumca. mval/l	pH	uf. Ca mval/l	E 480/540 i. Leerw.	E 480/540 i. Ser. + Mur.	Ca^{++} mval/l
1	0,9	4,75	7,28 7,38 7,50	3,15	0,70 0,71 0,71	1,060 1,060 1,061	2,88 2,83 2,70
2	1,5	5,15	7,40 7,45	2,6	0,71 0,71	0,80 0,77	0,7 0,5
3	17,8	6,7	7,10 7,26		0,70 0,70	0,54 0,64	--- ---
4	4,7	15,0	7,12 7,22		0,70 0,70	0,54 0,58	--- ---

1 = Erwachsenenserum, 2 = Nabelschnurserum, 3 = Neugeborenenserum vor Austauschtransfusion, 4 = Neugeb. serum nach Austauschtransfusion

Tab. 2: Ultrafiltrables Calcium im Erwachsenenserum

Nr.	Serumca. mval/l	uf. Ca bei pH 7,4 in mval/l Uf.	uf. Ca bei pH 7,4 in % v. Ser. ca	Zunahme d. uf. Ca zw. pH 7,6 - 7,1 in mval/l Uf.	Ges. -Eiw. in g%
1	4,81	2,48	51,6	0,65	6,4
2	4,87	2,45	50,3	0,48	6,4
3	4,56	2,47	54,2	0,60	6,4
4	5,01	2,49	49,7	0,48	6,6
5	4,96	2,60	52,5	0,75	6,6
6	4,62	2,43	52,6	0,75	6,8
7	5,11	2,60	50,9	0,45	6,4
8	4,77	2,55	53,5	0,55	6,4
Mittel- wert	4,84	2,51	51,9	0,59	

$\bar{x} = 44,66 \text{ nmolH}^+/\text{l}$, $\bar{y} = 2,52 \text{ mvalCa}/\text{l Uf}$, $b = 0,011 \text{ mvalCa}/\text{nmolH}^+$,
 $p < 0,0005$; Uf. Ca = $+ 2,03 + 0,011 [\text{H}^+]$

Tab. 3: Ultrafiltrables Calcium im Nabelschnurserum

Nr.	Serumca. mval/l	uf. Ca bei pH 7,3 in mval/l Uf.	uf. Ca bei pH 7,3 in % v. Ser. ca	Zunahme d. uf. Ca zw. pH 7,6 - 7,1 in mval/l Uf.	Ges. -Eiw. in g%
1	5,46	2,93	53,6	0,63	-
2	5,67	2,76	48,7	0,69	5,5
3	5,80	3,14	54,1	0,65	5,5
4	4,99	3,07	61,4	1,20	5,7
5	5,11	2,76	54,0	1,23	6,4
6	5,27	2,36	44,8	0,66	-
7	4,76	1,58	33,2	0,66	6,4
8	5,19	2,14	41,2	0,38	-
9	5,29	2,96	55,9	0,95	5,6
10	5,21	1,83	35,1	0,35	5,2
11	5,30	2,79	52,6	0,70	4,8
12	5,01	3,35	66,9	0,60	5,6
13	5,49	2,54	46,3	0,81	-
14	5,66	2,37	41,9	0,78	-
15	5,23	2,68	51,3	0,52	-
16	5,20	2,45	47,1	0,74	-
17	5,27	2,13	40,5	0,65	-
18	5,32	3,52	66,2	0,85	-
19	4,54	3,10	68,2	0,85	-
Mittel- wert	5,25	2,66	50,7	0,73	

$\bar{x} = 49.52 \text{ nmolH}^+/l$, $\bar{y} = 2,56 \text{ mval Ca/l Uf}$, $b = 0,0066 \text{ mval Ca/nmolH}^+$
 $p < 0,25$; $\text{Uf. Ca} = + 2,23 + 0,0066 [\text{H}^+]$

Tab. 4: Ultrafiltrables Calcium im Serum 4 - 9 Tage alter Neugeborener

Nr.	Serumca. mval/l	uf. Ca bei pH 7,4 in mval/l Uf.	uf. Ca bei pH 7,4 in mval/l	Zunahme d. uf. Ca zw. pH 7,6 - 7,1 in mval/l Uf.	Ges.-Eiw. in g%
1	4,54	2,49	54,8	0,80	6,4
2	4,25	2,50	58,8	0,83	5,1
3	5,06	2,55	50,4	1,09	6,1
4	4,77	2,66	55,8	0,83	5,1
5	4,07	2,46	60,5	0,42	-
Mittel- wert	4,53	2,53	56,1	0,79	-

$\bar{x} = 50,54 \text{ nmolH}^+/l$, $\bar{y} = 2,59 \text{ mval Ca/l Uf}$, $b = 0,0159 \text{ mval Ca/nmolH}^+$
 $p < 0,0005$; Uf. Ca = $+1,79 + 0,0159 [\text{H}^+]$

Tab. 5: Ultrafiltrables und ionisiertes Calcium bei einem Neugeborenen vor und nach drei Austauschtransfusionen

Nr.	Serumca. mval/l	uf. Ca bei pH 7,35 in mval/l Uf.	uf. Ca bei pH 7,35 in % v. Ser. ca	Ca ⁺⁺ im Uf. in mval/l	
v. AT 1	5,05	3,36	66,5	2,14	AT 1: am 3. Lebenstag
n. AT 1	12,58	11,57	92,2	3,78	AT 2: " 4. "
v. AT 2	7,97	5,44	68,27	2,88	AT 3: " 6. "
v. AT 3	5,19	3,97	76,4	2,00	
n. AT 3	9,45	7,8	82,5	2,18	

Tab. 6: Literaturübersicht über das "ultrafiltrable Calcium"

Autor	Ca-Best.	Serum-Ges. Ca i. mval/l	pH	Ultraf. methode	Temp. °C	uf. Ca in mval/l Uf	% uf. Ca v. Serumca.	Zunahme des uf. Ca/0,5 pH-Einh. Abnahme
HARNAPP 1938	Ca-oxalat titr. n. KRAMER u. TISDALL 1921	4,82 (4,59 - 5,25)	7,4 ?	N ₂ -Über- druck	Zi. temp.	2,87 2,44 - 3,44	59,7 50,6 - 74,8	--
TODD 1941	?	5,43	?	Gasüberdr. 20'	Zi. temp.	2,55 2,35 - 2,80	47,0	--
HOPKINS et al 1952	Ca-oxalat titr. n. CLARK u. COLLIP 1925	5,2 5,2 4,45 - 4,6	7,57 8,28 7,42	300 mm Hg, 24 h (n. Lavities) 1937	26 - 38°C (kein Ein- fluß)	3,6 2,6	69,0 50,0 70,0	~ 0,7
SARTORI 1955	Ca-oxalat titr. n. ROTHLIN u. BIDDER 1945	4,81	7,4 ?	150 mm Hg, anaerob.	Zi. temp.	2,65 ± 0,48	55,2 ± 10	--
PRASAD u. FLINK 1957	Ca-oxalat titr. n. CLARK u. COLLIP	4,95 ± 0,23	7,3 - 7,7 (Anstieg)	Zentrif. 75', 2500 rpm	25 - 37°C (kein Ein- fluß)	2,6 ± 0,25	52,5	--
TORJHARA et al 1957	Ca-oxalat titr. n. CLARK u. COLLIP	4,87 4,64 - 5,14	7,3 - 7,5 - 7,6	Zentrif. 3h, 2000 rpm	36°	3,21 3,09 - 3,58	60,7 - 71,4	~ 0,5
ROSE 1957	Ca-oxalat titr. n. KRAMER u. TISDALL EDTA-Titr. n. KENNY u. TOVERUD 1954	5,2 5,0 - 5,4	5% CO ₂ ?	650 mm Hg-Überdr. 2 - 4h	Zi. temp.	3,02 - 3,15	58,1 - 60,5	--
FANCONI u. ROSE 1958	EDTA-Titr. n. KENNY u. TOVERUD	4,75 ± 0,25	7,45	650 mm Hg-Überdr. 2 - 4h	Zi. -temp.	2,97 - 3,19	59,2 - 67,1	
LOKEN et al 1960	Flammenf.	~ 5,0	7,35 7,35	Ultras. 8h, 4000 rpm	37° 12°	53,1 49,7 - 57,8 63,0 ± 2,6	~ 0,5	0,5
WALSER 1961	EDTA-Titr. n. WALSER 1960	4,96 ± 0,06	7,57	n. Torib. et al 1957	25°	2,72 ± 0,09	54,8	--
BREEN u. FREEMANN 1961	EDTA-Titr. n. BETT u. FRASER 1958	4,96 ± 0,14	7,46 ± 0,05	Ultras. 16h, 36000 rpm	37 ± 1°	2,65 ± 0,09	53,5 ± 1,8	0,25
PIKKARAI- NEN et al 1962	EDTA-Titr.	4,95 4,8 - 5,20	7,39 - 7,48	760 mm Hg, 1h	Zi. temp.	3,10 2,9 - 3,30	62,0 59,0 - 60,0	--
HARNACH u. COOLIDGE 1963	EDTA-Titr. n. COOLIDGE 1960	4,73 4,16 - 5,04	7,40	Murexidm. (Ca ⁺⁺ -Best.)	25°	3,06 Ca ⁺⁺ 2,88 - 3,40	63,6 - 69,2	--
MUNDAY u. MAHI 1964	Flammenf.	5,21 ± 0,03	?	Zentrif. 11h, 1500 rpm	37°	2,69 ± 0,04	51,7 ± 0,8	0,5 - 0,6
HATTINGBERG et al 1966	fluorometr.	4,2 - 4,81	7,4	Sephadex- inkub. 3'	Zi. temp.	2,5 - 2,88	60	1,08
MOORE 1966	EDTA-Titr.	5,42 ± 0,64	7,4	?	37°	2,98 ± 0,48	55,0 ± 8,5	0,44
Eigene Werte	komplexo- metrisch			Zentrif. 1h, 6000 rpm	37°			
Erwachsene		4,84 4,56 - 5,11	7,4			2,51 2,43 - 2,60	51,9 49,7 - 54,2	0,59 0,45 - 0,75
Nabelschnur- serum		5,25 4,54 - 5,80	7,35			2,66 1,58 - 3,52	50,7 33,2 - 68,2	0,73 0,38 - 1,23
Neugeborene 4 - 9 Tage alt		4,53 4,07 - 5,06	7,4			2,53 2,46 - 2,66	56,1 50,4 - 60,5	0,79 0,42 - 1,09

